



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>C12N 15/82, 15/15, C07K 14/81, C12N 5/10, A01H 5/00, 5/10, C07K 16/38, A61K 38/57, 7/00</b>	<b>A1</b>	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 99/38987</b> (43) Date de publication internationale: 5 août 1999 (05.08.99)
---	-----------	--

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/00195

(22) Date de dépôt international: 29 janvier 1999 (29.01.99)

(30) Données relatives à la priorité:  
98/01089 30 janvier 1998 (30.01.98) FR

(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): MERISTEM THERAPEUTICS [FR/FR]; 8, rue des Frères Lumière, F-63100 Clermont-Ferrand (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): GRUBER, Véronique [FR/FR]; Résidence Sainte-Madeleine, 44 C, avenue Jean-Jaurès, F-63400 Chamalières (FR). OLAGNIER, Béatrice [FR/FR]; 6, rue de Wailly, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). BOURNAT, Philippe [FR/FR]; 48, rue Bonnabaud, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). THEISEN, Manfred [DE/FR]; 78, boulevard F. Mitterrand, Bâtiment K, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). MEROT, Bertrand [FR/FR]; 6, place du Communal, La Coussedière, F-63530 Volvic (FR).

(74) Mandataires: GUTMANN, Ernest etc.; Ernest Gutmann – Yves Plasseraud S.A., 3, rue Chauveau-Lagarde, F-75008 Paris (FR).

(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

Avec une version révisée du rapport de recherche internationale.

(88) Date de publication de la version révisée du rapport de recherche internationale: 30 septembre 1999 (30.09.99)

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING, BY PLANT CELLS,  $\alpha_1$ -ANTITRYPSIN AND ITS ALLELES, AND PRODUCTS CONTAINING THE RESULTING  $\alpha_1$ -ANTITRYPSIN(54) Titre: PROCÉDE DE PRODUCTION, PAR DES CELLULES VÉGÉTALES, D' $\alpha_1$ -ANTITRYPSINE ET DE SES VARIANTES, ET PRODUITS CONTENANT L' $\alpha_1$ -ANTITRYPSINE AINSI OBTENUE

## (57) Abstract

he invention concerns a method for producing  $\alpha_1$ -antitrypsin ( $\alpha_1$ -AT), or alleles thereof characterised in that it consists in: (i) introducing in the monocotyledon plant cells, a nucleic acid comprising a sequence coding for  $\alpha_1$ -antitrypsin ( $\alpha_1$ -AT) or for an allele thereof, the alleles being differentiated from natural human  $\alpha_1$ -AT by one or several substitution(s), deletion(s) or insertion(s) of amino acids, and optionally a sequence coding for a selective agent; (ii) selecting the cells having integrated the nucleic acid in stable manner; (iii) propagating the transformed cells in culture, or regeneration of entire chimerical or transgenic plants; (iv) recuperating and optionally purifying the resulting  $\alpha_1$ -antitrypsin or its alleles.

## (57) Abrégé

L'invention concerne un procédé de production d' $\alpha_1$ -antitrypsine ( $\alpha_1$ -AT), ou de variantes de celle-ci caractérisé par: i) l'introduction dans des cellules végétales monocotylédones, d'un acide nucléique comportant une séquence codant pour l' $\alpha_1$ -antitrypsine ( $\alpha_1$ -AT) ou pour une variante de celle-ci, les variantes se différenciant de l' $\alpha_1$ -AT humaine naturelle par une ou plusieurs substitution(s), délétion(s) ou insertion(s) d'acides aminés, et éventuellement une séquence codant pour un agent sélectif; ii) sélection des cellules ayant intégré de manière stable l'acide nucléique; iii) propagation des cellules transformées en culture, ou régénération de plantes entières chimériques ou transgéniques; iv) récupération et éventuellement purification de l' $\alpha_1$ -antitrypsine ou de ses variantes, ainsi produites.

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/82 C12N15/15 C07K14/81 C12N5/10 A01H5/00  
 A01H5/10 C07K16/38 A61K38/57 A61K7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K C12N A01H A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TERASHIMA M. ET AL: "PRODUCTION OF FUNCTIONAL HUMAN ALPHA1-ANTITRYPSIN BY RICE CELL CULTURE" ABSTRACTS OF PAPERS. ACS NATIONAL MEETING, 7 September 1997, page COMPLETE 1 XP002069835	1-13, 15, 19-28
Y	see the whole document	4, 13-17, 19, 22-37
Y	WO 96 33277 A (BIOCEM S A ; INST RECHJOVEINAL (FR); LENEÉ PHILIPPE (FR); GRUBER VE) 24 October 1996 cited in the application see page 3, line 1 - page 4, line 26 see page 8, line 5 - page 9, line 20 --- -/--	4, 13-17, 19, 22-37



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 June 1999

Date of mailing of the international search report

15/06/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van der Schaal, C

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 137 633 A (ZYMOGENETICS INC) 17 April 1985	6, 18
Y	see the whole document	29-33, 35-37
	----	
P, X	WO 98 36085 A (APPLIED PHYTOLOGICS INC ; RODRIGUEZ RAYMOND L (US); SUTLIFF THOMAS) 20 August 1998	1-13, 15, 19-28
Y	see claims; examples 1, 2	4, 13-17, 19, 22-37
	-----	

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9633277 A	24-10-1996	FR 2733249 A	25-10-1996
		AU 5696796 A	07-11-1996
		BG 101959 A	31-07-1998
		BR 9608011 A	05-01-1999
		CA 2218418 A	24-10-1996
		CN 1185178 A	17-06-1998
		CZ 9703309 A	18-03-1998
		EP 0822988 A	11-02-1998
		HU 9801438 A	28-10-1998
		PL 322874 A	02-03-1998
		SK 140197 A	08-07-1998
EP 0137633 A	17-04-1985	AT 70302 T	15-12-1991
		AU 588793 B	28-09-1989
		AU 3180184 A	14-02-1985
		DE 3485336 A	23-01-1992
		JP 60186290 A	21-09-1985
WO 9836085 A	20-08-1998	AU 6171698 A	08-09-1998

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Don n° Internationale No

PCT/FR 99/00195

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6	C12N15/82	C12N15/15	C07K14/81	C12N5/10	A01H5/00
	A01H5/10	C07K16/38	A61K38/57	A61K7/00	

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07K C12N A01H A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	TERASHIMA M ET AL: "PRODUCTION OF FUNCTIONAL HUMAN ALPHA1-ANTITRYPSIN BY RICE CELL CULTURE" ABSTRACTS OF PAPERS. ACS NATIONAL MEETING, 7 septembre 1997 (1997-09-07), page COMPLETE 1 XP002069835	1-13, 15, 19-28
Y	le document en entier	4, 13-17, 19, 22-37
Y	WO 96 33277 A (BIOCEM S A ; INST RECHJOVEINAL (FR); LENEÉ PHILIPPE (FR); GRUBER VE) 24 octobre 1996 (1996-10-24) cité dans la demande page 3, ligne 1 - page 4, ligne 26 page 8, ligne 5 - page 9, ligne 20	4, 13-17, 19, 22-37
	-/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### ° Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 juin 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

11.08.99

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

VAN DER SCHAAL C.A.

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 137 633 A (ZYMOGENETICS INC) 17 avril 1985 (1985-04-17)	6,18
Y	le document en entier	29-33, 35-37
	---	
P,X	WO 98 36085 A (APPLIED PHYTOLOGICS INC ;RODRIGUEZ RAYMOND L (US); SUTLIFF THOMAS) 20 août 1998 (1998-08-20)	1-13,15, 19-28
Y	revendications; exemples 1,2	4,13-17, 19,22-37
	-----	

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9633277 A	24-10-1996	FR 2733249 A	25-10-1996
		AU 5696796 A	07-11-1996
		BG 101959 A	31-07-1998
		BR 9608011 A	05-01-1999
		CA 2218418 A	24-10-1996
		CN 1185178 A	17-06-1998
		CZ 9703309 A	18-03-1998
		EP 0822988 A	11-02-1998
		HU 9801438 A	28-10-1998
		PL 322874 A	02-03-1998
		SK 140197 A	08-07-1998
EP 0137633 A	17-04-1985	AT 70302 T	15-12-1991
		AU 588793 B	28-09-1989
		AU 3180184 A	14-02-1985
		DE 3485336 A	23-01-1992
		JP 60186290 A	21-09-1985
WO 9836085 A	20-08-1998	AU 6171698 A	08-09-1998